UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUADALAJARA
DIEGO SANCHEZ REYES INMUNOLOGÍA APLICADA
7MO SEMESTRE 75 - 10

Análisis del inserto comercial de un kit de ELISA

Introducción

La técnica ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay o ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas) es una prueba inmunológica que permite detectar y cuantificar sustancias específicas mediante la interacción entre antígenos y anticuerpos. En este trabajo se analiza el inserto comercial del kit AFP AccuBind ELISA Microwells de Monobind Inc., identificando los elementos esenciales de la técnica, su fundamento inmunológico, el procedimiento experimental y la interpretación de los resultados.

1. Datos generales del inserto

Nombre de la prueba

AFP AccuBind ELISA Microwells

Analito que detecta

La prueba detecta y cuantifica alfafetoproteína (AFP) en suero humano.

La AFP es una glucoproteína que se utiliza principalmente como marcador asociado con ciertos tumores, especialmente el carcinoma hepatocelular y algunos tumores de células germinales. También puede utilizarse en el seguimiento de determinadas situaciones relacionadas con el embarazo.

Fabricante

Monobind Inc.

Tipo de ELISA

El método corresponde a un ELISA de tipo sándwich o inmunoensayo enzimático de captura.

La fase sólida consiste en una microplaca recubierta con estreptavidina, lo que permite capturar los complejos inmunológicos que contienen un anticuerpo marcado con biotina.

Tipo de muestra utilizada

La muestra utilizada es suero humano.

El inserto indica que las muestras pueden mantenerse refrigeradas entre 2 y 8 °C durante un máximo de 5 días. Si no se procesan dentro de ese periodo, pueden congelarse a −20 °C.

2. Fundamento de la prueba

Principio inmunológico

La prueba se basa en la unión específica entre la alfafetoproteína presente en la muestra y anticuerpos monoclonales dirigidos contra AFP.

El método utiliza el principio inmunológico del ELISA tipo sándwich. En este sistema, el analito de interés queda atrapado entre dos anticuerpos que reconocen diferentes regiones de la molécula de AFP.

La reacción puede representarse de manera simplificada de la siguiente forma:

Anticuerpo monoclonal biotinilado + AFP + anticuerpo monoclonal marcado con enzima → complejo inmunológico

Posteriormente, debido a la presencia de biotina en uno de los anticuerpos, el complejo se une a la estreptavidina inmovilizada en los pozos de la microplaca.

Por lo tanto, la AFP queda formando una estructura tipo “sándwich”:

Estreptavidina inmovilizada – anticuerpo biotinilado – AFP – anticuerpo marcado con enzima

La cantidad de complejo formado será proporcional a la concentración de AFP presente en la muestra.

Principales antígenos, anticuerpos y conjugados involucrados

Los componentes principales de la reacción son:

1. AFP de la muestra:

Es el analito o antígeno que se desea cuantificar.

2. Anticuerpo monoclonal anti-AFP marcado con biotina:
Se une específicamente a la AFP. La biotina permite posteriormente la captura del complejo por la estreptavidina de la microplaca.

3. Anticuerpo monoclonal anti-AFP marcado con enzima:
También reconoce la AFP y contiene una enzima que participa en la generación de la señal.

4. Estreptavidina inmovilizada en la microplaca:
Se une con gran afinidad a la biotina del anticuerpo y permite fijar el complejo inmunológico al pozo.

5. Sustrato de la enzima:
El kit utiliza una solución de sustrato que permite desarrollar una reacción colorimétrica.

6. Solución de interrupción:
Detiene la reacción enzimática antes de realizar la lectura.

¿Cómo se genera la señal detectable?

Después de la formación del complejo inmunológico y de los lavados, permanece en el pozo únicamente el complejo que contiene AFP y el anticuerpo marcado con enzima.

Posteriormente se agrega el sustrato de trabajo. La enzima presente en el anticuerpo conjugado reacciona con el sustrato y produce un cambio de color.

La intensidad del color generado es proporcional a la cantidad de enzima retenida en el pozo y, por lo tanto, es proporcional a la cantidad de AFP presente en la muestra.

Inserto ilustrado:

Monobind Inc.
Lake Forest, CA 92630, USA

AccuBind
ELISA Microwells

Alfa- Fetoproteína (AFP) ELISA
Código de producto: 1925-300

Uso: Determinación cuantitativa de la concentración de Alfa- Fetoproteina (AFP) en suero humano mediante el inmunoensayo enzimométrico de microplacas.

RESUMEN Y EXPLICACION DEL ENSAYO

La alfa-feto proteína (AFP) es una gluco-proteína con peso molecular de 70k Da. La AFP se porduce normalmente durante el desarrollo fetal por los hepatocitos, saco vitelino, y en menor grado por estn tu-o cost gastrintestinal. Las concentraciones en suero alcanzan un nivel pico hasta de 10ngml al cabo de 12 gradualmente y metios de 25ng/ml a menos de 25ng/ml después de un nño pasf de 2la:ith a menos de 25ng/ml después de un año postparto. Del él en adelante, los niveles se reducen a un mas a menos de 10 ng/ml. Los altos niveles de FP se encuentran en pacientes con hepatoma primario y tumores del germen derivados del sacrococcineo. La AFP es el marcador mas útil para el diagnóstico y manejo de carcinoma hepatocelular (3).

La AFP se eleva en mujeres embarazadas. La presencia de concentraciones anormalmente altas de AFP en mujeres embarazadas proporciona un marcador de riesgo para el síndrome de Down (3).

De acuerdo con este método el calibrador AFP, el espécimen o control del paciente se adiciona en primer término a un pozo recubierto con estreptavidina. Los anticuerpos monoclonales marcado con biotina y los marcados con enzimas (dirigidos contra epitopes claramente diferenciados de AFP) se adicionan y se mezclan los reactantes. La reacción entre los diversos anticuerpos AFP y el AFP nativo forma un complejo en sándwich que se une con el pozo recubierto de estreptavidina. Después de completar el periodo requeiito de estrebación, el conjugado enlazado con el anticuerpo enzima -AFP se separa del conjugado no enlazado enzima -AFP mediante aspiración o decantación. La actividad de la enzima presente en la superficie del pozo se cuantifica mediante reacción con un sustrato adecuado para producir color.

El empleo de varias referencias de suero de niveles conocidos de antígeno alfa- fetoproteínas (AFP) permite la construcción de una curva de respuesta de dosis que representa de su actividad y concentración. A partir de la comparación con la curva de respuesta de dosis, se puede correlacionar la actividad de una muestra desconocida con la concentración AFP.

PRINCIPIO

Ensayo inmuno enzimo métrico (tipo3):

Los reactivos esenciales requeridos para realizar un ensayo inmuno enzimo métrico incluyen anticuerpos de alta afinidad y especificidad (enzimático e inmovilizados), que tienen un reconocimiento de epitopes claramente diferenciado, en exceso, y nativo para el antigeno. De acuerdo con este procedimiento, la inmovilización ocurre durante el ensayo en la superficie de una pozo de microplacas a través de la interacción de la pozo recubierta con estreptavidina y el anticuerpo anti AFP monoclonal marcado con biotina que se agrega al ensayo.

Al mezclar el anticuerpo monoclonal marcado con biotina, el anticuerpo marcado con enzima y el suero que contenga el antígeno nativo, se presenta una reacción entre el antígeno nativo y los anticuerpos, sin competencia ni obstáculo estericos, para formar así un complejo soluble en sándwich. La interacción se ilustra mediante la siguiente ecuación:

$$^{Enz}Ab + Ag_{AFP} + {}^{Enz}Ab_{P} \underset{K_1}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} {}^{Enz}Ab\text{--}Ag_{AFP}\text{--}{}^{Enz\text{-}Ab(ns)}$$

Ab = Anticuerpo monoclonal marcado con biotina (cantidad en exceso)
Ag = Antígeno nativo (cantidad variable)
^{Enz}Ab = Anticuerpo marcado de enzima (cantidad en exceso)
$^{Enz}Ab - Ag_{AFP} -{}^{Enz}Ab$ = Complejo en sándwich antigeno-anticuerpos

K_1 = Tasa constante de asociación
K_d = Tasa constante de disociación

Simultáneamente, el complejo es depositado en el pozo a través de la reacción de alta afinidad de la estreptavidina y el anticuerpo marcado con biotina. Esta interacción se ilustra a continuación:

$$^{Enz}Ab - Ag_{AFP} - {}^{Enz}Ab_{(ns)} + \text{estreptavidina} = \text{complejo inmovilizado}$$

Estreptavidina CW= estreptavidina inmovilizado en pozo

Complejo inmovilizado= complejo en sándwich enlazado a la pozo.

Después de que se logre el equilibrio, la fracción enlazada al anticuerpo se separa del antigeno no enlazado por decantación o aspiración. La actividad enzimática de la fracción enlazada con el anticuerpo será directamente proporcional a la concentración de antígeno nativo. Al utilizar diversas referencias de suero de valores conocidos de antigeno, se podrá generar una curva de respuesta de dosis a partir de la cual se evalúa la concentración de antigeno de una muestra desconocida.

REACTIVOS

Materiales suministrados:

A. Antígeno Alfa fetoproteína (AFP) – 1ml/vial- iconos A-F
Seis (6) viales de antigeno CEA de referencia a los niveles de 0 (A), 5 (B), 25 (C), 50 (D) 250 (E) y 500(F) ng/ml. Almacenar a 2-8°C. Se agrega preservante
Nota: los estándares, basados en suero humano, se calibraron utilizando una preparación de referencia, la cual se ensayo contra la primera preparación internacional de referencia (WHO 1 IRP 72/225).

B. Anti- AFP reactivo enzimático -13ml/vial – icono
Un (1) vial que contiene anticuerpo marcado con enzima, IgG de rata macho monoclonal y marcado con biotina, con amortiguador de PH, tinción y preservantes. Almacenar a 2-8° C.

C. Placa recubierta con estreptavidina – 96 pozos – icono
Un (1) ha!pla:a de 96 pozos con estreptavidina y empacada en bolsa de aluminio con agente secante. Almacenar a 2-8 °C.

D. Concentrado de solución de lavado - 20 ml – icono
Un (1) vial que contiene un surfactante en solución salina amortiguada. Se agrega preservante. Almacenar a 2-30 °C.

E. Sustrato A – 7ml/vial – icono S+
Un (1) recipiente que contiene tetrametilbencidina (TMB) en amortiguador de PH. Almacenar a 2-8° C.

F. Sustrato B – 7 ml/vial- icono S+
Un (1) recipiente que contiene peróxido de hidrógeno ($H2O_2$.) en solución amortiguante de PH. Almacenar a 2-8° C.

G. Solución de interrupción de reacción-6ml/vial-icono
Un (1) recipiente que contiene un acido fuerte (1N HCl). Almacenar a 2-30 °C.

I. Instrucciones del Producto

Nota 1: No utilizar los reactivos después de la fecha de vencimiento del Kit.
Nota 2: Los reactivos abiertos son estables durante sesenta (60) días si se almacenan a una temperatura de 2-8° C.
Nota 3: Los reactivos anteriores son para una sola microplaca de 96 pozos.

Materiales Requeridos que no se suministran:

1. pipetas capaces de administrar 25ul a 50ul, volúmenes con una precisión superior a 1%.
2. dispensadores para administraciones repetitivas de 0.100ml y 0.300ml volúmenes a una precisión superior a 1 5 %.
3. lavadores de micro placas o recipientes gormibles (opcional)
4. Lector de micro placas con capacidad de absorbancia de longitud de onda de 450 nm ±20 nm.
5. papel absorbente para secado de pozos de micro placas,
6. envolver plástico o tapa de micro placa para realizar el procedimiento de incubación.
7. aspiradora al vacío (opcional) para el proceso de lavado.
8. cronómetro
9. materiales de control de calidad.

PRECAUCIONES

Para uso Diagnóstico in Vitro
No esta diseñado para uso interno o externo en humanos o animales.

Los productos que contienen suero humano han demostrado ser no reactivos para el antígeno de superficie de hepatitis B, anticuerpos VIH 1 y 2 y HCV por parte de reactivos licenciados por la FDA. Debido a que ningún ensayo puede ofrecer una garantía, total de que los agentes infecciosos no estén presentes, todos los sueros humanos deben ser manipulados como potencialmente peligrosos y capaces de transmitir enfermedades. Los punuos procedimientos de laboratorio para la manipulación de productos de sangre se encuentrn en el centro para control de enfermedades/ instituto nacional de salud, "bioseguridad en laboratorios: normas biológicas y biomédicos" segunda edición HHS, N° CDC)88-8395.

RECOLECCION Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Se deben emplear las precauciones en la recolección de muestras por punción venosa para las muestras de suero o sangre. Para establecer una comparación precisa con los valores normales establecidos, se obtendrá una muestra de suero en ayunas. La sangre se recolectará en un tubo corriente que tenga una tapa roja en la sección superior, sin aditivos ni anticoagulantes. Se permitirá que la sangre se coagule. Centrifugar el espécimen para separar el suero de las células.

Las muestras se pueden refrigerar a 2-8°C por un periodo máximo de cinco (5) días. Si las muestras no se pueden ensayar dentro de este periodo, las muestras podrán y biomédicos" segunda edición HHS, N° CDC)88-8395.

PREPARACION DE REACTIVOS

1. Amortiguador de pH para lavado.
Diluir el contenido de la solución de lavado en 1000ml con agua destilada o desionizada en un recipiente adecuado para almacenamiento. Almacenar a temperatura ambiente (20-27°C) hasta por 60 días.

2. Solución de sustrato de trabajo
Vertir el contenido del vial color ámbar marcado como solución "A" dentro del vial transparente marcado como solución "B". Colocar la tapa amarilla en el vial transparente para fácil identificación. Mezclar y etiquetar según corresponda. Almacenar a 2-8 °C.
Nota: No utilizar el sustrato de trabajo si presenta una coloración azul.

PROCEDIMIENTO DE ENSAYO

Antes de seguir adelante con el ensayo, hacer que todos los reactivos, referencias de suero y controles alcancen la temperatura ambiente (20-27°C).

1. Formatear las pozos de micro placas para cada una de las referencias de suero, controles y muestras del paciente que van a someterse a ensayo por duplicado. Colocar nuevamente las tiras de micro pozos sin utilizar dentro de la bolsa de aluminio, a sellar y almacenar a 2-8°C.
2. Pipetear 0.025 ml (25µl) de la referencia adecuada del suero, control o espécimen dentro del pozo asignada.
3. Adicionar 0.100ml (100µl) del reactivo enzimático anti-AFP sea a cada pozo. Es muy importante dispensar todos los reactivos cerca de la base de la pozo recubierta.
4. Agitar suavemente la microplaca durante 20-30 segundos para mezclar y tapar.
5. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente.
6. Eliminar el contenido de la microplaca por decantación o aspiración. Si se hace por decantación, golpear suavemente y secar la placa con papel absorbente.
7. Adicionar 300µl de amortiguador de pH para lavado (consultar Sección sobre Preparación de Reactivos), decantar, golpear suavemente y secar) o aspirar. Repetir el procedimiento dos (2) veces mas para un total de tres (3) lavados. Se podrá utilizar un lavador de placas automático o manual. Seguir las instrucciones del fabricante para establecer el uso apropiado. Si se utiliza un recipiente gormible, llenar cada pozo oprimiendo el recipiente (evitando la formación de burbujas) para dispensar el lavado. Decantar el lavado y repetir el procedimiento dos (2) veces más.
8. Adicionar 0.100 ml (100µl) de la solución del sustrato de trabajo a todos la pozos (consultar la Sección sobre Preparación del Reactivo). Agregar siempre reactivos en el mismo orden para minimizar las diferencias en tiempo de reacción entre los pozos.
   No agitar la placa después de adición del sustrato.
9. Incubar a temperatura ambiente durante quince (15) minutos.
10. Adicionar 0.050ml (50µl) de la solución de interrupción de reacción a cada pozo y mezclar suavemente durante15-20 segundos. Tenga en cuenta que los reactivos se agregan siempre en el mismo orden para minimizar las diferencias en tiempo de reacción entre los pozos.
11. Toma lectura de la absorbancia en cada pozo a 450nm (utilizando una longitud de onda de referencia de 620-630nm con el fin de minimizar las imperfecciones de las pozos) dentro de un lector de micro placas. Los resultados deben leerse dentro de los treinta (30) minutos contados a partir de la adición de la solución de interrupción de reacción.

CONTROL DE CALIDAD

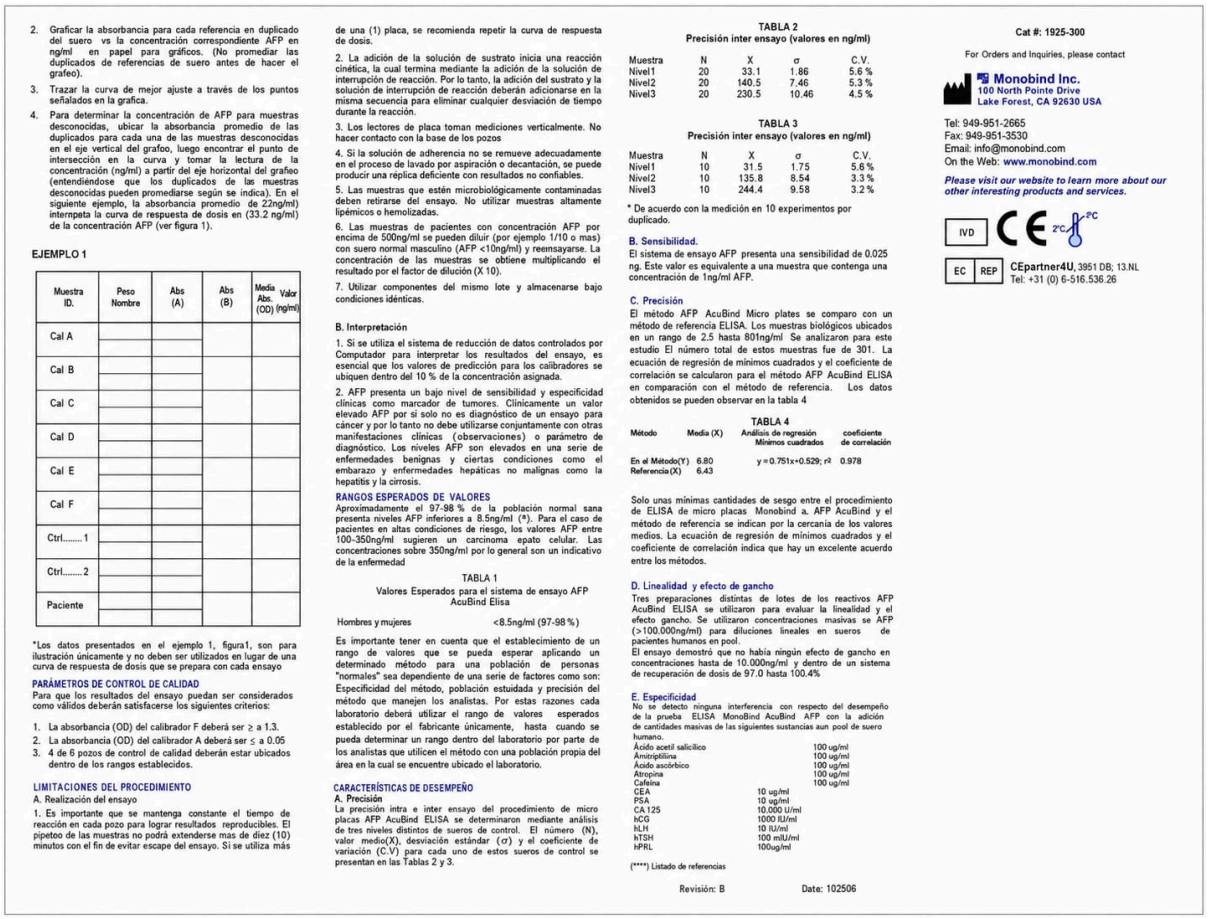
Todos los laboratorios deberán ensayar los controles a niveles dentro de los rangos bajo, normal y elevado para monitorear el desempeño del ensayo. Estos controles deben tratarse como muestras desconocidas y determinarse los valores en cada uno de los procedimientos de prueba que se lleven a cabo. Se mantendrán cuadros de control de calidad para hacerle un seguimiento al desempeño. Series reactivos para pacaríis como de los procedimizdos de permnto que se tonare a valuar las tendencias. ewtnios de cuanstr las ewtpios para evauelu un cpreviamente oe establecidos de los desempeño seránunindicio los de cambio no detectado en los condiciones esper imracir de degradación de los reactivos del kit. Se utilizaran reactivos frescos para determinar el motivo de las variaciones.

CALCULO DE RESULTADOS

Se utiliza una curva de respuesta de dosis para evaluar la concentración del AFP en muestras desconocidas.

1. Registrar la absorbancia obtenida de la impresión del lector de micro placas según se señala en el Ejemplo 1.

Imagen 1. Parte principal de inserto ELISA



2. Graficar la absorbancia para cada referencia en duplicado del suero vs la concentración correspondiente AFP en ng/ml en papel para gráficos. (No promediar las duplicados de referencias de suero antes de hacer el grafeo).
3. Trazar la curva de mejor ajuste a través de los puntos señalados en la grafica.
4. Para determinar la concentración de AFP para muestras desconocidas, ubicar la absorbancia promedio de las duplicados para cada una de las muestras desconocidas en el eje vertical del grafeo, luego encontrar el punto de intersección en la curva y tomar la lectura de la concentración (ng/ml) a partir del eje horizontal del grafieo (entendiéndose que los duplicados de las muestras desconocidas pueden promediarse según se indica). En el siguiente ejemplo, la absorbancia promedio de 22ng/ml) interrpeta la curva de respuesta de dosis en (33.2 ng/ml) de la concentración AFP (ver figura 1).

EJEMPLO 1

Muestra ID.	Peso Nombre	Abs (A)	Abs (B)	Media Abs. (OD)	Valor (ng/ml)
Cal A					
Cal B					
Cal C					
Cal D					
Cal E					
Cal F					
Ctrl..... 1					
Ctrl..... 2					
Paciente					

*Los datos presentados en el ejemplo 1, figura1, son para ilustración únicamente y no deben ser utilizados en lugar de una curva de respuesta de dosis que se prepara con cada ensayo

PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD
Para que los resultados del ensayo puedan ser considerados como válidos deberán satisfacerse los siguientes criterios:

1. La absorbancia (OD) del calibrador F deberá ser ≥ a 1.3.
2. La absorbancia (OD) del calibrador A deberá ser ≤ a 0.05
3. 4 de 6 pozos de control de calidad deberán estar ubicados dentro de los rangos establecidos.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
A. Realización del ensayo
1. Es importante que se mantenga constante el tiempo de reacción en cada pozo para lograr resultados reproducibles. El pipeteo de las muestras no podrá extenderse mas de diez (10) minutos con el fin de evitar escape del ensayo. Si se utiliza más de una (1) placa, se recomienda repetir la curva de respuesta de dosis.
2. La adición de la solución de sustrato inicia una reacción cinética, la cual termina mediante la adición de la solución de interrupción de reacción. Por lo tanto, la adición del sustrato y la solución de interrupción de reacción deberán adicionarse en la misma secuencia para eliminar cualquier desviación de tiempo durante la reacción.
3. Los lectores de placa toman mediciones verticalmente. No hacer contacto con la base de los pozos
4. Si la solución de adherencia no se remueve adecuadamente en el proceso de lavado por aspiración o decantación, se puede producir una réplica deficiente con resultados no confiables.
5. Las muestras que estén microbiológicamente contaminadas deben retirarse del ensayo. No utilizar muestras altamente lipémicos o hemolizadas.
6. Las muestras de pacientes con concentración AFP por encima de 500ng/ml se pueden diluir (por ejemplo 1/10 o mas) con suero normal masculino (AFP <10ng/ml) y reemsayarse. La concentración de las muestras se obtiene multiplicando el resultado por el factor de dilución (X 10).
7. Utilizar componentes del mismo lote y almacenarse bajo condiciones idénticas.

B. Interpretación
1. Si se utiliza el sistema de reducción de datos controlados por Computador para interpretar los resultados del ensayo, es esencial que los valores de predicción para los calibradores se ubiquen dentro del 10 % de la concentración asignada.
2. AFP presenta un bajo nivel de sensibilidad y especificidad clínicas como marcador de tumores. Clínicamente un valor elevado AFP por si solo no es diagnóstico de un ensayo para cáncer y por lo tanto no debe utilizarse conjuntamente con otras manifestaciones clínicas (observaciones) o parámetro de diagnóstico. Los niveles AFP son elevados en una serie de enfermedades benignas y ciertas condiciones como el embarazo y enfermedades hepáticas no malignas como la hepatitis y la cirrosis.

RANGOS ESPERADOS DE VALORES
Aproximadamente el 97-98 % de la población normal sana presenta niveles AFP inferiores a 8.5ng/ml (*). Para el caso de pacientes en altas condiciones de riesgo, los valores AFP entre 100-350ng/ml sugieren un carcinoma epato celular. Las concentraciones sobre 350ng/ml por lo general son un indicativo de la enfermedad

TABLA 1
Valores Esperados para el sistema de ensayo AFP AcuBind Elisa

Hombres y mujeres	<8.5ng/ml (97-98 %)

Es importante tener en cuenta que el establecimiento de un rango de valores que se pueda esperar aplicando un determinado método para una población de personas "normales" sea dependiente de una serie de factores como son: Especificidad del método, población estuidada y precisión del método que manejen los analistas. Por estas razones cada laboratorio deberá utilizar el rango de valores esperados establecido por el fabricante únicamente, hasta cuando se pueda determinar un rango dentro del laboratorio por parte de los analistas que utilicen el método con una población propia del área en la cual se encuentre ubicado el laboratorio.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO
A. Precisión
La precisión intra e inter ensayo del procedimiento de micro placas AFP AcuBind ELISA se determinaron mediante análisis de tres niveles distintos de sueros de control. El número (N), valor medio(X), desviación estándar (σ) y el coeficiente de variación (C.V) para cada uno de estos sueros de control se presentan en las Tablas 2 y 3.

TABLA 2
Precisión inter ensayo (valores en ng/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Nivel1	20	33.1	1.86	5.6 %
Nivel2	20	140.5	7.46	5.3 %
Nivel3	20	230.5	10.46	4.5 %

TABLA 3
Precisión inter ensayo (valores en ng/ml)

Muestra	N	X	σ	C.V.
Nivel1	10	31.5	1.75	5.6 %
Nivel2	10	135.8	8.54	3.3 %
Nivel3	10	244.4	9.58	3.2 %

* De acuerdo con la medición en 10 experimentos por duplicado.

B. Sensibilidad.
El sistema de ensayo AFP presenta una sensibilidad de 0.025 ng. Este valor es equivalente a una muestra que contenga una concentración de 1ng/ml AFP.

C. Precisión
El método AFP AcuBind Micro plates se comparo con un método de referencia ELISA. Los muestras biológicos ubicados en un rango de 2.5 hasta 801ng/ml Se analizaron para este estudio El número total de estos muestras fue de 301. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación se calcularon para el método AFP AcuBind ELISA en comparación con el método de referencia. Los datos obtenidos se pueden observar en la tabla 4

TABLA 4

Método	Media (X)	Análisis de regresión Mínimos cuadrados	coeficiente de correlación
En el Método(Y)	6.80	y = 0.751x+0.529; r²	0.978
Referencia (X)	6.43		

Solo unas mínimas cantidades de sesgo entre el procedimiento de ELISA de micro placas Monobind a. AFP AcuBind y el método de referencia se indican por la cercanía de los valores medios. La ecuación de regresión de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación indica que hay un excelente acuerdo entre los métodos.

D. Linealidad y efecto de gancho
Tres preparaciones distintas de lotes de los reactivos AFP AcuBind ELISA se utilizaron para evaluar la linealidad y el efecto gancho. Se utilizaron concentraciones masivas se AFP (>100.000ng/ml) para diluciones lineales en sueros de pacientes humanos en pool.
El ensayo demostró que no había ningún efecto de gancho en concentraciones hasta de 10.000ng/ml y dentro de un sistema de recuperación de dosis de 97.0 hasta 100.4%

E. Especificidad
No se detecto ninguna interferencia con respecto del desempeño de la prueba ELISA MonoBind AcuBind AFP con la adición de cantidades masivas de las siguientes sustancias aun pool de suero humano.

Ácido acetil salicílico	100 ug/ml
Amitriptilina	100 ug/ml
Ácido ascórbico	100 ug/ml
Atropina	100 ug/ml
Cafeina	100 ug/ml
CEA	10 ug/ml
PSA	10 ug/ml
CA 125	10.000 U/ml
hCG	1000 IU/ml
hLH	10 IU/ml
hTSH	100 mIU/ml
hPRL	100ug/ml

(****) Listado de referencias

Revisión: B Date: 102506

Cat #: 1925-300

For Orders and Inquiries, please contact

Monobind Inc.
100 North Pointe Drive
Lake Forest, CA 92630 USA

Tel: 949-951-2665
Fax: 949-951-3530
Email: info@monobind.com
On the Web: www.monobind.com

Please visit our website to learn more about our other interesting products and services.

IVD 2°C 8°C

EC REP CEpartner4U, 3951 DB; 13.NL
Tel: +31 (0) 6-516.536.26

Imagen 2. Parte trasera de inserto ELISA